



TITLE:

〔第3篇〕 SOM に対する結核菌の耐性上昇形式, これに及ぼす各種抗結核薬の影響, 並びに各種抗結核薬に対する結核菌の耐性上昇に及ぼす SOM の影響(オルトアミノフェノール・メタンスルホン酸ソーダ (SOM) の試験管内抗結核菌作用に関する研究)

AUTHOR(S):

田中, 健一

---

CITATION:

田中, 健一. 〔第3篇〕 SOM に対する結核菌の耐性上昇形式, これに及ぼす各種抗結核薬の影響, 並びに各種抗結核薬に対する結核菌の耐性上昇に及ぼす SOM の影響(オルトアミノフェノール・メタンスルホン酸ソーダ (SOM) の試験管内抗結核菌作用に関する研究). 京都大学結核研究所紀要 1964, 13(1): 35-44

ISSUE DATE:

1964-09

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/51868>

RIGHT:

# オルトアミノフェノール・メタンスルホン酸ソーダ (SOM) の試験管内抗結核菌作用に関する研究

〔第3篇〕 SOM に対する結核菌の耐性上昇形式、これに及ぼす各種抗結核薬の影響、並びに各種抗結核薬に対する結核菌の耐性上昇に及ぼす SOM の影響

京都大学結核研究所内科学第1（教授 内藤 益一）

副 手 田 中 健 一

（昭和39年7月31日受付）

## 緒 言

いわゆる難治肺結核にいかに対処すべきかは、今日われわれに課せられたもっとも重要な課題の一つである。

重症肺結核患者の治療に際してわれわれの感ずるもっとも大きい障壁の一つが、抗結核薬に対する菌の耐性化にあることは容易に首肯されよう。

結核化学療法における併用療法の意義が、一つには併用による制菌乃至殺菌作用の強化にあることはいうまでもないが、それと同時に併用によって薬剤耐性の進展を阻止遅延せしめられる点が強調されねばならない。

1946年、Middlebrook & Yegian<sup>1)</sup>が Sulfonamide による SM の耐性上昇阻止について論じて以来、今日迄現われたおびただしい研究業績はいずれも抗結核薬の併用が耐性進展を阻止遅延する上において有効であることを実証して来たが、薬剤耐性発現の機序および薬剤併用による耐性出現阻止の機構については今日なお不明の点が少なくない。

しかしながら薬剤耐性の出現、その阻止の問題は化学療法の実際においてきわめて重要な意味をもっている。したがって新しい抗結核薬が発見された場合、その薬剤自身の耐性化様式を検討すべきはもちろんであるが、この新物質と既存の薬剤との併用が相互の耐性進展にどのよ

うな影響をあたえるかは、慎重に検討されねばならない重要な課題ということが出来よう。

第1篇において著者は、試験管内の実験成績において SOM が新しい抗結核薬として有望な性質をもつことを示し、第2篇において既存の抗結核薬との間に結核菌に対して試験管内でかなりの併用制菌ならびに併用殺菌効果のあることを示した。

本篇においては前述の観点から、SOM に対する結核菌の耐性上昇の形式はどのようなものであるか、今日結核治療に用いられている薬剤との併用により SOM 耐性進展が阻止せられるかどうか、更に進んで各種抗結核薬に対する結核菌の耐性上昇が SOM 併用により阻止遅延せられるかどうかを、増量継代培養法により検討した実験成績について記載する。

## 実 験 方 法

### 1. 培 地

Tween-albumin 培地を使用した。

### 2. 菌 株

Tween-albumin 培地に継代培養した、研究室保存の H37Rv 株を使用した。

### 3. 検 体

SOM, SM, PAS, INH, KM, CS, VM, TH, および EB の9種を使用した。第2篇において述べたと同様の方法により、これら各検体の溶解液を作成した。

## 実験方法

### 1. SOM 耐性上昇形式、並びにこれに及ぼす各種抗結核薬の影響に関する検討

各薬剤溶解液を滅菌蒸留水で適宜希釈することにより、1,000 $\gamma$ /ml SOM, 5 $\gamma$ /ml SM, 5 $\gamma$ /ml PAS, 1 $\gamma$ /ml INH, 5 $\gamma$ /ml KM, 100 $\gamma$ /ml CS, 10 $\gamma$ /ml VM, 20 $\gamma$ /ml TH, 20 $\gamma$ /ml EB の各水溶液を作成した。

Tween-albumin 培地に SOM 以外のこれら各薬剤を 100:1 の容積比で加えることにより、1ml あたりそれぞれ SM 0.05 $\gamma$ , PAS 0.05 $\gamma$ , INH 0.01 $\gamma$ , KM 0.05 $\gamma$ , VM 0.1 $\gamma$ , CS 1 $\gamma$ , TH 0.2 $\gamma$ , EB 0.2 $\gamma$  の割合に各薬剤を含有する培地を準備した。これらの各濃度は、Tween-albumin 培地における各薬剤の発育阻止最低濃度 (MIC) のほぼ  $\frac{1}{10}$  となっている。併用薬剤の濃度を MIC の  $\frac{1}{10}$  としたのは、増量継代法による耐性上昇実験では一般にこの程度の併用濃度を用いることが多いからである。

次に10管1系列の小試験管9系列を用意し、その中の1系列に第1管 3.6ml, 第2管以下 2ml, 薬剤を含有しない Tween-albumin 培地を分注した。ついで第1管に 1,000 $\gamma$ /ml SOM 溶液 0.4ml を加えてよく攪拌し、その 2ml を第2管へ移し、以下同様にして順次倍数希釈を行なうことにより、第1管 SOM 濃度が 100 $\gamma$ /ml となる倍数希釈列を作成し、SOM 耐性上昇の形式を観察するための系列とした。

ついで残りの8系列に、前述した各薬剤を含有する Tween-albumin 培地をそれぞれ分注し、同様にして第1管濃度が 100 $\gamma$ /ml となる SOM の倍数希釈列を作成した。この各系列は、SOM 耐性上昇に及ぼす各薬剤の遅延効果を観察するためのものである。

Tween-albumin 培地に約2週間培養した H37Rv 株培養液を同培地で希釈することにより約1mg/ml の菌液を作成し、各試験管にその 0.1ml を接種し孵卵器内で 37°C に3週間培養した。この各系列を SOM 単独、並びに SOM に各薬剤を併用させた場合の第1代とした。

培養開始後3週間目に菌発育の状態を肉眼的に観察し、発育の認められた薬剤の最高濃度を第1代における耐性値と定めた。

次に SOM 単独、並びに各併用薬剤系列ごとにあらためて第1代と同様の SOM 倍数希釈列を作成し、第1代において耐性値を示した試験管より約1mg/ml の菌液を作成し、この各系列にその 0.1ml を接種、再び孵卵器内で3週間培養し、第2代とした。同様の操作をくりかえすことにより、5代にわたって継代培養

を実施した。

### 2. 各種抗結核薬耐性上昇に及ぼす SOM の影響に関する検討

#### 実験1

各薬剤溶解液を蒸留水で希釈し、50 $\gamma$ /ml SOM, 100 $\gamma$ /ml SM, 100 $\gamma$ /ml PAS, 10 $\gamma$ /ml INH, 100 $\gamma$ /ml KM, 1,000 $\gamma$ /ml CS, 100 $\gamma$ /ml VM, 100 $\gamma$ /ml TH, 1,000 $\gamma$ /ml EB の各水溶液を作成した。

Tween-albumin 培地に100:1の容積比で 50 $\gamma$ /ml の SOM 溶液を加えることにより、1ml あたり 0.5 $\gamma$  の SOM を含有する同培地を準備した。この濃度は Tween-albumin 培地における SOM の発育阻止最低濃度のほぼ  $\frac{1}{10}$  となっている。

10管1系列の小試験管16系列を用意し、うち8系列について薬剤を含有しない Tween-albumin 培地を、第1管 3.6ml, 第2管以下 2ml 分注した。前述した SOM 以外の各薬剤溶液の 0.4ml を1系列毎に第1管へ注加し、よく内容を攪拌してその 2ml を第2管へ移し、以下同様にして倍数希釈を行ない、第10管は薬液を含まない対照培地とした。この系列はいうまでもなく、各薬剤単独の耐性上昇形式を観察するためのものである。

ついで前述した SOM を 0.5 $\gamma$ /ml に含有する Tween-albumin 培地について、各薬剤毎に同様の倍数希釈列8系列を作成した。この各系列は各薬剤耐性進展に及ぼす SOM の併用効果を検討するためのものである。

以上の16系列に前項と同様、H37Rv 株の 1mg/ml 菌液 0.1ml を接種し孵卵器内で3週間培養、第1代とした。

3週後に菌発育の状態を肉眼的に判定し、発育の認められた薬剤の最高濃度をもって第1代における各薬剤の耐性値と定めた。

第1代における各薬剤の耐性値を考慮しつつ、第1管濃度が第1代と同等、あるいは更に高濃度に薬剤を含有する各薬剤の倍数希釈列を新しく作成し、これに第1代において耐性値を示した試験管より、約 1mg/ml の菌液を作成してその 0.1ml を接種、再び孵卵器内で3週間培養し、第2代とした。同様の操作をくりかえすことにより、5代にわたって継代培養を実施した。

#### 実験2

Tween-albumin 培地における SOM の併用濃度を MIC の約  $\frac{1}{5}$  である 1 $\gamma$ /ml として、SM, PAS, INH, KM, VM, TH の各薬剤について2週間隔で実験1と同様の増量継代培養を4代にわたって実施した。

## 実験成績並びに考按

## 1. SOM 耐性上昇形式、並びにこれに及ぼす各種抗結核薬の影響に関する検討

SOM 耐性上昇形式、並びに SOM 耐性上昇に及ぼす各種抗結核薬の影響を観察し、その実験成績を表 1 に示した。また図 1 はこれを図示したもので、各代における耐性値が第 1 耐性値の何倍に相当するかを耐性化倍数として、縦軸半対数グラフに示したものである。

周知のように Demerec<sup>23,3)</sup>は、細菌の薬剤耐性上昇形式を Streptomycin 型(SM-pattern)と Penicillin 型(PC-pattern)とに分けている。

本実験の成績で SOM 耐性値は第 1 代 3.13  $\gamma$ /ml, 第 2 代第 3 代でその 2 倍の 6.25  $\gamma$ /ml, 第 4 代で 4 倍の 12.5  $\gamma$ /ml, 第 5 代でようやく 8 倍の 25  $\gamma$ /ml となっており、その耐性上昇形式はきわめて緩徐であり, Demerec の PC-pattern, あるいは obligatory multiple-step resistance<sup>4)</sup>の範疇に属するものとみてよいであろう。

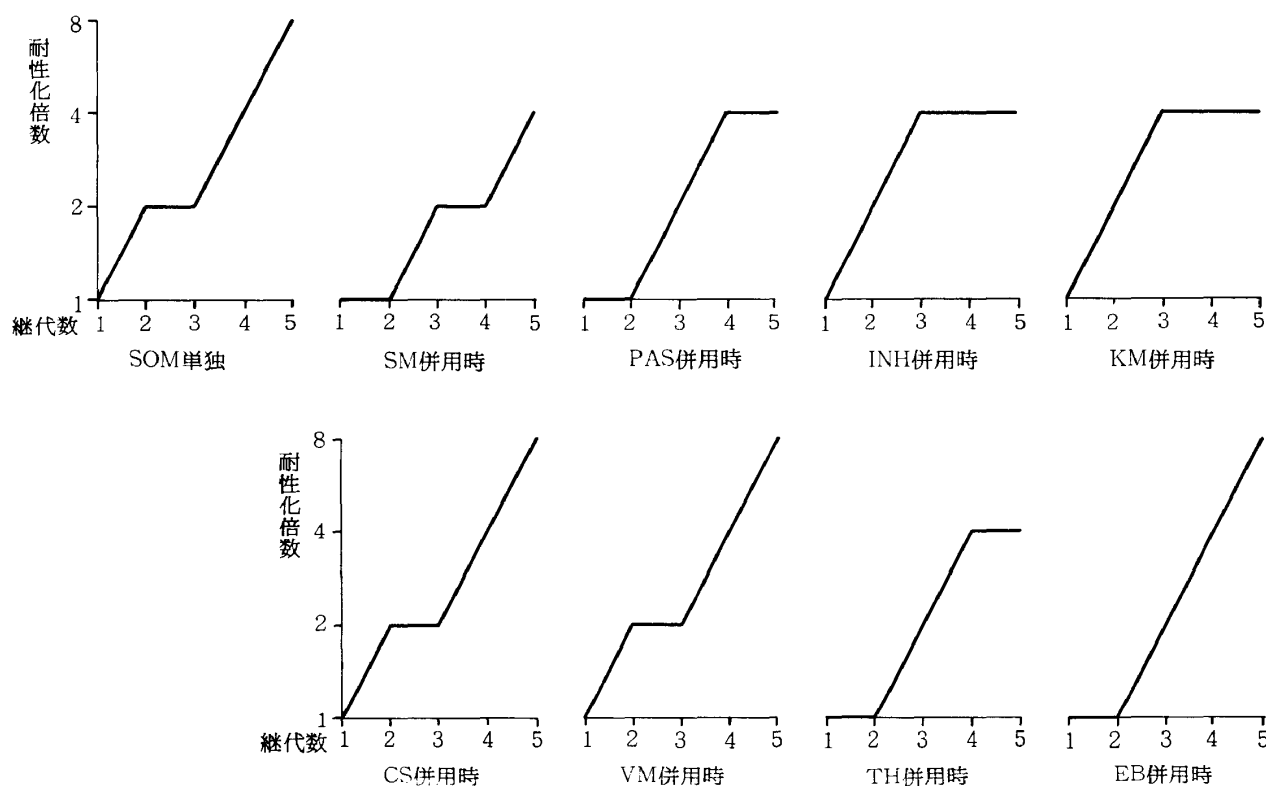
このことはわれわれが、臨床的に SOM を投与した症例について行なった耐性検査の成績において、50  $\gamma$ /ml 以上の SOM 耐性値を示した例がほとんど認められなかったという事実<sup>5)</sup>と関連して興味深く思われる。

表 1 SOM 耐性上昇形式、並びにこれに及ぼす各種抗結核薬の影響

SOM 耐性値 ( $\gamma$ /ml)

継代	SOM 単独	SM 併用時	PAS 併用時	INH 併用時	KM 併用時	CS 併用時	VM 併用時	TH 併用時	EB 併用時
I	3.13	3.13	3.13	1.56	1.56	3.13	3.13	3.13	3.13
II	6.25	3.13	3.13	3.13	3.13	6.25	6.25	3.13	3.13
III	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25	6.25
IV	12.5	6.25	12.5	6.25	6.25	12.5	12.5	12.5	12.5
V	25	12.5	12.5	6.25	6.25	25	25	12.5	25

図 1 SOM 耐性上昇形式並びにこれに及ぼす各種抗結核薬の影響



SOM 耐性上昇形式がこのように緩慢であることは、SOM 耐性上昇に及ぼす他種抗結核薬の耐性遅延効果を明確に把握しようとする際、少なからず不便をとまなっている。

まず SOM 耐性上昇に及ぼす SM の影響について観察すると、第1代耐性値は SOM 単独と同値の  $3.13\gamma/\text{ml}$  で、第2代で単独の  $\frac{1}{2}$  である  $3.13\gamma/\text{ml}$  となっているが、第3代では再び単独と同値の  $6.25\gamma/\text{ml}$  となっている。しかし第4代第5代では再び単独の  $\frac{1}{2}$  である  $6.25\gamma/\text{ml}$ ,  $12.5\gamma/\text{ml}$  となっており、幾分遅延効果があるのではないかと想像されるがその程度は顕著でない。

次に SOM 耐性上昇に及ぼす PAS の影響を観察すると、第1代では SOM 単独と同値の  $3.13\gamma/\text{ml}$  であり、第2代で単独の  $\frac{1}{2}$  となっているが、第3代第4代で再び単独と同値になっている。第5代では単独の  $\frac{1}{2}$  になっているが、この程度では実験誤差を考慮すると遅延効果を認め難いもののように思われる。

SOM 耐性上昇に及ぼす INH の効果について述べると、第1代における耐性値は単独の  $\frac{1}{2}$  である  $1.56\gamma/\text{ml}$  で、併用制菌効果が示されている。第2代における耐性値も単独の  $\frac{1}{2}$  である  $3.13\gamma/\text{ml}$  である。第3代は単独と同値の  $6.25\gamma/\text{ml}$  であるが、第4代第5代耐性値は共に  $6.25\gamma/\text{ml}$  でそれぞれ単独の  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{4}$  になっている。したがって耐性化倍数からみると、第5代耐性値は第1代に比し4倍の耐性上昇であって SM, PAS 併用の場合と相違なく、遅延効果は認められ難いように思われる。

KM 併用時における SOM 耐性値は各継代について INH とまったく同値である。したがって INH と同様、KM についても SOM 耐性遅延効果を認め難い。INH, KM は第2篇において述べた様に、制菌作用、殺菌作用の2方面にわたって SOM と著明な併用効果を示したのであるが、SOM 耐性進展を阻止する上においては有効と言い得ないようである。

CS, VM の SOM 耐性上昇に及ぼす影響を観

察すると、各継代におけるこれら薬剤併用時の SOM 耐性値は SOM 単独の場合とまったく同値であり、したがって SOM 耐性遅延効果は認められない。

TH 併用時における SOM 耐性値は、第1代で単独と同値であり、第2代で  $\frac{1}{2}$  の  $3.13\gamma/\text{ml}$  になっているが、第3代第4代では再び同値となり、第5代で  $\frac{1}{2}$  の  $12.5\gamma/\text{ml}$  となっている。耐性化倍数からみれば4倍の耐性上昇であるが、この程度では SOM 単独にくらべて有意の差とは言えないであろう。

EB 併用時における SOM 耐性値は、第2代のみ単独の  $\frac{1}{2}$  であり、他は単独と同値であって遅延効果を認め難い。

以上を総括すると SOM 耐性上昇の形式はきわめて緩徐で高度耐性菌を得難く、したがってこれに及ぼす各薬剤の遅延効果を正確に把握し難いが、MIC の  $\frac{1}{10}$  程度の併用濃度においては、いずれの薬剤においても遅延効果を認め難いように思われる。

## 2. 各種抗結核薬耐性上昇に及ぼす SOM の影響に関する検討

結核菌の各抗結核薬に対する耐性上昇形式、並びにこれに及ぼす SOM の影響を検討した実験成績を表2および表3に示した。また図2および図3は SOM による耐性進展阻止効果をいっそう明瞭に把握するため、各代における耐性値が第1代耐性値の何倍に相当するかを耐性化倍数として縦軸半対数グラフに図示したもので、実線は各薬剤単独の場合の耐性上昇形式を、また点線は SOM 併用時の耐性上昇形式を示している。以下個々の薬剤について実験成績を説明しつつ、SOM による遅延効果について考察を加えて行きたいと思う。

まず第1実験における SM 耐性値を観察すると、表より明らかなごとく耐性値は第1代で  $0.156\gamma/\text{ml}$  であるが、第2代ですでに  $100\gamma/\text{ml}$ , 第4代では  $1,000\gamma/\text{ml}$  を越えており、耐性上昇形式が迅速高度であることが明瞭である。一方 SM 耐性上昇に及ぼす SOM の影響を観察すると、第1代における耐性値は  $0.156\gamma/\text{ml}$  と SM

表 2 各種抗結核薬耐性上昇に及ぼす SOM の影響 (実験 1)

SM 耐性値 (γ/ml)			PAS 耐性値 (γ/ml)		
継代	SM 単独	SOM 併用時	継代	PAS 単独	SOM 併用時
I	0.156	0.156	I	0.625	0.625
II	125	31.3	II	2.5	2.5
III	625	312.5	III	5	2.5
IV	1,250	625	IV	6.25	3.13
V	1,250	625	V	12.5	3.13

INH 耐性値 (γ/ml)			KM 耐性値 (γ/ml)		
継代	INH 単独	SOM 併用時	継代	KM 単独	SOM 併用時
I	0.0313	0.0156	I	0.156	0.078
II	5	2.5	II	0.625	0.313
III	12.5	6.25	III	6.25	1.56
IV	25	12.5	IV	50	25
V	25	12.5	V	125	62.5

CS 耐性値 (γ/ml)			VM 耐性値 (γ/ml)		
継代	CS 単独	SOM 併用時	継代	VM 単独	SOM 併用時
I	3.13	3.13	I	0.313	0.313
II	6.25	6.25	II	1.56	1.56
III	6.25	6.25	III	6.25	6.25
IV	12.5	12.5	IV	12.5	12.5
V	12.5	12.5	V	12.5	12.5

TH 耐性値 (γ/ml)			EB 耐性値 (γ/ml)		
継代	TH 単独	SOM 併用時	継代	EB 単独	SOM 併用時
I	1.25	0.625	I	1.25	1.25
II	1.56	0.78	II	3.13	3.13
III	3.13	1.56	III	6.25	6.25
IV	25	12.5	IV	6.25	6.25
V	25	12.5	V	12.5	12.5

単独に比し変りがないが、第2代における耐性値は 31.3γ/ml でやや遅延効果が認められるようである。しかし第3代以後はいずれも SM 単独の耐性値に比して  $\frac{1}{2}$  だけ低く耐性が出現しているだけであり、したがって遅延効果はほとんど認め難いものと思われる。

次に第2実験における第1代 SM 耐性値は 0.156γ/ml で第1実験と同値であり、第4代で100倍の 15.6γ/ml 耐性が得られている。これに対する SOM の遅延効果を観察すると、第1代

では SM 単独と同値の 0.156γ/ml であるが、第2代で  $\frac{1}{2}$  以下の 0.313γ/ml であり、第3代では  $\frac{1}{10}$  の 0.625γ/ml となっており、耐性遅延効果が幾分認められる傾向がうかがわれる。しかし第4代では再び SM 単独の約  $\frac{1}{2}$  である 6.25 γ/ml になっている。

PAS 耐性上昇形式に関する多くの議論は、それが一般に緩徐であって Demerec の PC-pattern の典型的例としているようにみうけられるが、

表3 各種抗結核薬耐性上昇に及ぼす SOM の影響 (実験2)

SM 耐性値 (γ/ml)			PAS 耐性値 (γ/ml)		
継代	SM 単独	SOM 併用時	継代	PAS 単独	SOM 併用時
I	0.156	0.156	I	0.313	0.156
II	0.78	0.313	II	1.25	0.313
III	6.25	0.625	III	3.13	1.25
IV	15.6	6.25	IV	3.13	1.56

INH 耐性値 (γ/ml)			KM 耐性値 (γ/ml)		
継代	INH 単独	SOM 併用時	継代	KM 単独	SOM 併用時
I	0.0313	0.0156	I	0.313	0.156
II	0.125	0.0313	II	1.25	0.313
III	0.25	0.0625	III	6.25	2.5
IV	6.25	3.13	IV	12.5	6.25

VM 耐性値 (γ/ml)			TH 耐性値 (γ/ml)		
継代	VM 単独	SOM 併用時	継代	TH 単独	SOM 併用時
I	0.625	0.625	I	0.313	0.156
II	1.56	0.78	II	2.5	0.625
III	6.25	3.13	III	6.25	1.56
IV	12.5	6.25	IV	12.5	6.25

本実験の成績からこうした傾向をうかがうことが出来る。

即ち第1実験における PAS 耐性値は第5代でようやく 12.5γ/ml であり、第1代の 0.625 γ/ml に比し20倍の上昇に過ぎない。一方 PAS 耐性上昇に及ぼす SOM の影響をみると、耐性値は第1代第2代で PAS 単独の場合とまったく同値の 0.625γ/ml, 2.5γ/ml をそれぞれ示しており、第3代第4代で  $\frac{1}{2}$  低く現われ、第5代ではじめて  $\frac{1}{4}$  の 3.13γ/ml となっている。したがって SOM 併用によりやや遅延効果が認められるのではないかと想像される。

第2実験においては第1代耐性値の 0.313γ/ml に対し、第3代以降に10倍の 3.13γ/ml 耐性を得られている。一方 PAS 耐性上昇に及ぼす SOM の影響をみると、第1代耐性値は単独の  $\frac{1}{2}$  である 0.156γ/ml で併用制菌効果が現われている。第2代では単独の  $\frac{1}{4}$  でやや遅延効果が認められるようであるが、第4代では再び単独

の  $\frac{1}{2}$  となっており、遅延効果はそれほど顕著でない。

INH 耐性上昇形式については一般に SM-pattern であるとする見解が多い。

第1実験において INH 耐性値は第2代ですでに 5γ/ml と、第1代耐性値の 0.0313γ/ml に比し100倍以上の耐性上昇を示しているが、第3代における耐性値の上昇は顕著でなく、この傾向は第4代でも同様である。また第5代の耐性値は第4代と同様 25γ/ml にとどまり、それ以上の上昇は認められなかった。一方 INH 耐性上昇に及ぼす SOM の影響を観察すると、第1代耐性値は INH 単独の  $\frac{1}{2}$  である 0.0156γ/ml であって併用制菌効果が認められるが、第2代以降は INH 単独とまったく同様の耐性上昇傾向をたどっており、遅延効果が認められない。

一方第2実験においては、第1代耐性値が第1実験と同値の 0.0313γ/ml であり、第2代でその4倍、第3代で8倍、第4代で200倍の6.25

図 2 各種抗結核薬耐性上昇に及ぼす SOM の影響 (実験 1)

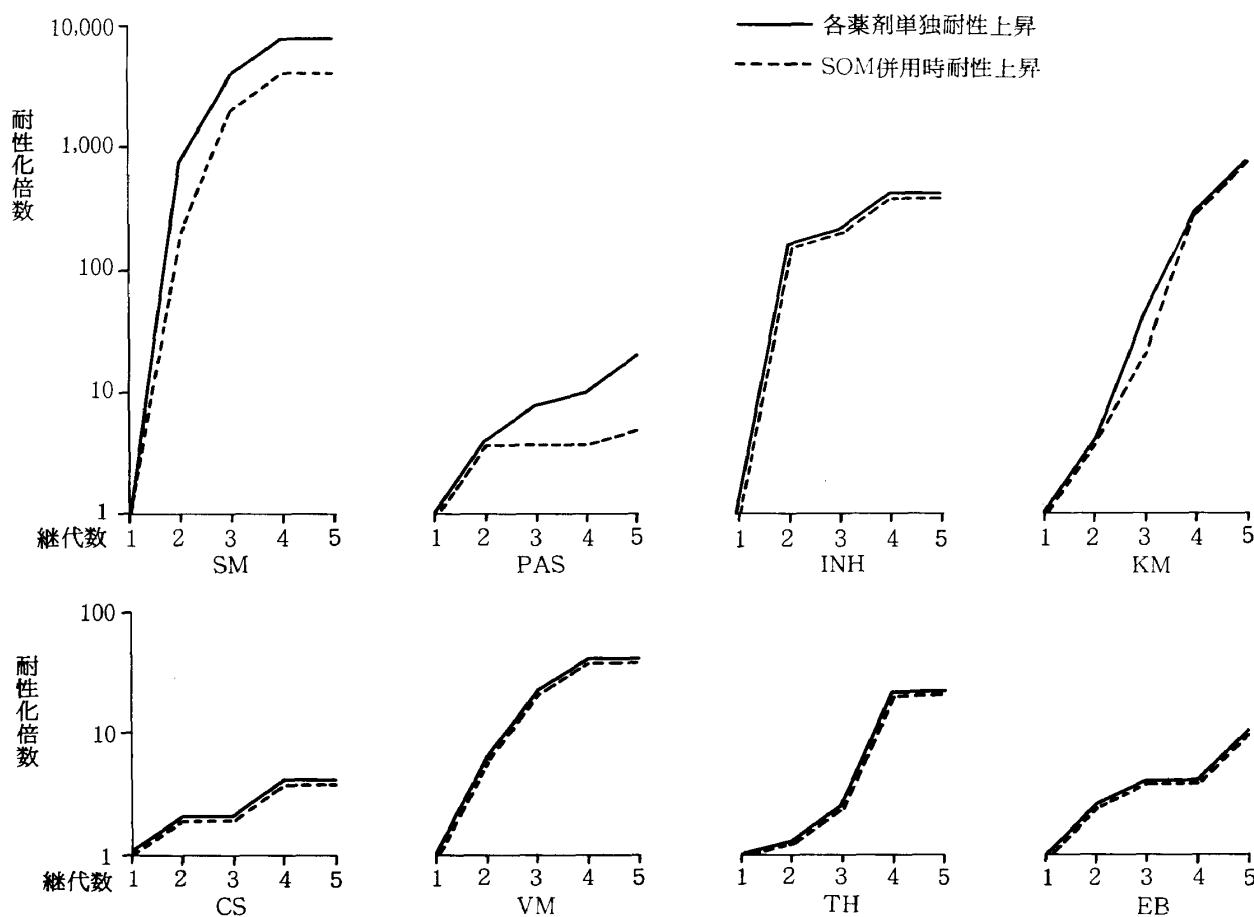
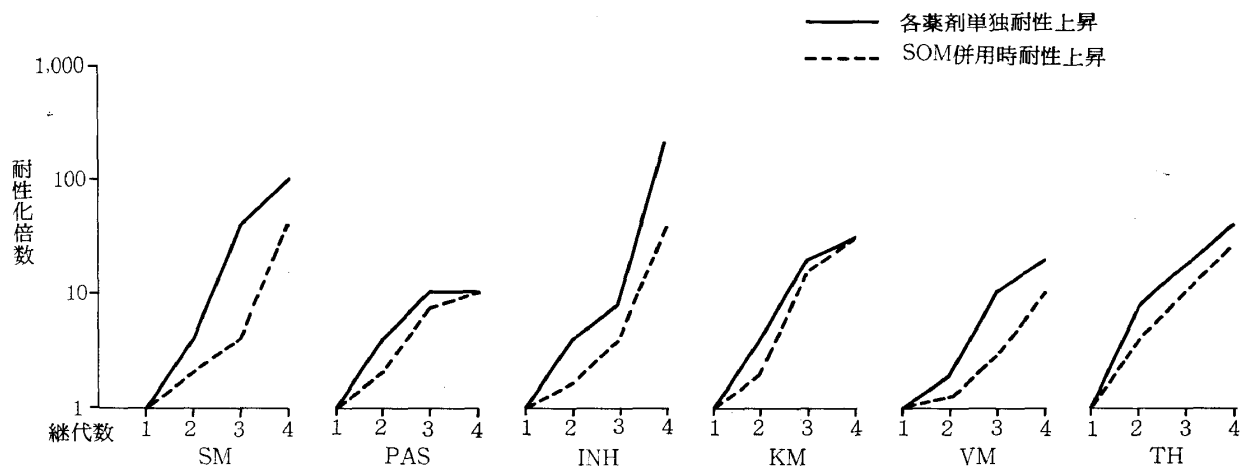


図 3 各種抗結核薬耐性上昇に及ぼす SOM の影響 (実験 2)





$\gamma$ /ml 耐性が得られている。これに対する SOM の遅延効果を観察すると、第1代では単独の  $\frac{1}{2}$  である 0.0156 $\gamma$ /ml であるが、第2代で単独の  $\frac{1}{4}$  である 0.0313 $\gamma$ /ml、第3代で  $\frac{1}{4}$  の 0.0625 $\gamma$ /ml、第4代で  $\frac{1}{2}$  の 3.13 $\gamma$ /ml となっている。したがって第1実験と比較した場合、SOM 1 $\gamma$ /ml の併用は 0.5 $\gamma$ /ml の併用に比し、ややすぐれた耐性遅延効果を示すように思われる。

KM 耐性上昇の形式は SM-pattern を示すとされている<sup>6)7)</sup>。

著者の第1実験において KM 第2代の耐性値は 0.625 $\gamma$ /ml で、第1代耐性値 0.156 $\gamma$ /ml の4倍であるが、第3代以後に急速な耐性値の上昇が認められている。即ち第3代における耐性値は 6.25 $\gamma$ /ml で第1代に比し40倍の耐性上昇であり、第5代では800倍の 125 $\gamma$ /ml 耐性が得られている。一方 KM 耐性上昇に及ぼす SOM の影響を観察すると、第1代の耐性値は KM 単独の  $\frac{1}{2}$  である 0.078 $\gamma$ /ml で併用制菌効果が認められるが、第2代における耐性値も KM 単独の  $\frac{1}{2}$  であり、したがって図2から明瞭なように耐性化倍数としては対照と一致する結果になっている。第3代では KM 単独の場合が第2代に比し10倍の上昇であるのに対して耐性値が5倍の 1.56 $\gamma$ /ml で、やや遅延効果が認められるようであるけれども、第4代、第5代では再び単独時の  $\frac{1}{2}$  である 25 $\gamma$ /ml、62.5 $\gamma$ /ml となっており、したがって SOM による耐性進展阻止効果はほとんど認められない。

一方第2実験においては第1代耐性値の 0.313 $\gamma$ /ml に対し、第4代で40倍の 12.5 $\gamma$ /ml 耐性が得られている。これに及ぼす SOM の影響をみると、第1代耐性値は 0.156 $\gamma$ /ml と、単独の  $\frac{1}{2}$  で併用制菌効果が認められ、第2代で単独の  $\frac{1}{4}$ 、第3代で単独の  $\frac{1}{2}$  以下、第4代で単独の  $\frac{1}{2}$  の耐性値という傾向をたどっており、遅延効果は第1実験と同様明らかでない。

CS 耐性発現に関する多くの研究は、いずれも耐性上昇が緩除で高度耐性菌を得難いことを示しているようである<sup>8)~16)</sup>。

著者の実験においては第1代耐性値の 3.13 $\gamma$ /ml に対し、第2代で2倍の 6.25 $\gamma$ /ml 耐性、第4代で4倍の 12.5 $\gamma$ /ml 耐性が得られているが、それ以上の耐性上昇は認められない。また SOM 併用時における耐性値は表より明らかなように各代においてまったく CS 単独と同値で、SOM による遅延効果を認め難い。

VM耐性の出現に関して Steenken<sup>17)</sup> は Tween-albumin 培地を用いて増量継代培養を行ない、4代迄の耐性上昇は顕著でないがそれ以後急激に耐性値の上昇をみたと述べている。研究室の神尾<sup>18)</sup> は10%牛血清加キルヒナー培地を用いて増量継代培養法を実施し、第3代から耐性上昇を認め、第7代で 50 $\gamma$ /ml 耐性菌を得たと報告している。

著者の第1実験では第1代耐性値 0.313 $\gamma$ /ml に対して第2代で5倍の 1.56 $\gamma$ /ml、第3代では20倍の 6.25 $\gamma$ /ml が得られているが、第4代以後も 12.5 $\gamma$ /ml 以上の耐性値は得られていない。また SOM 併用時における VM 耐性値は CS と同様、VM 単独と各継代において同値であり、SOM による遅延効果は認められない。

第2実験では第1代耐性値の 0.625 $\gamma$ /ml に対して、第4代で20倍の 12.5 $\gamma$ /ml 耐性が得られている。これに対する SOM の影響をみると、第2代以降、各代の耐性値は単独の  $\frac{1}{2}$  であって、第1実験に比してやや耐性進展阻止効果が認められる。

TH 耐性上昇に関して金井<sup>19)</sup> は、H37Rv株、H<sub>2</sub>株、Tween-albumin 培地を用いて1週間隔の増量継代培養を行ない、H37Rv株では5代後に 10 $\gamma$ /ml、8代後 50 $\gamma$ /ml、H<sub>2</sub>株では3代後 5 $\gamma$ /ml、4代後 10 $\gamma$ /ml、6代後 50 $\gamma$ /ml の耐性菌を得ている。その耐性上昇の形式は SM や KM の場合のように急激かつ迅速ではないが、PAS や CS ほど緩除ではないようである。

著者の第1実験において第3代迄の耐性上昇はゆるやかであるが、第4代で第1代耐性値 1.25 $\gamma$ /ml の20倍に相当する 25 $\gamma$ /ml 耐性が得られている。これに対する SOM の影響を観察すると、第1代耐性値は 0.625 $\gamma$ /ml で併用制菌効果が認められるが、第2代から第5代迄耐性値

はすべて TH 単独の  $\frac{1}{2}$  であり、したがって耐性化倍数を図示した図 2 においては単独と同一のグラフが得られ、遅延効果が認められない。

第 2 実験では第 2 代で 8 倍、第 3 代で 20 倍、第 4 代で 40 倍の 12.5 $\gamma$ /ml TH 耐性が得られている。これに対する SOM の影響をみると、第 2 代、第 3 代で単独のいずれも  $\frac{1}{4}$  の耐性上昇であり、第 4 代で  $\frac{1}{2}$  の耐性上昇になっている。したがってこの実験成績を第 1 実験と比較した場合、SOM 併用濃度を 1 $\gamma$ /ml とした時には、SOM は TH 耐性上昇をある程度遅延させるものと考えられる。

EB 耐性上昇に関して Thomas<sup>20)</sup>は、EB を各種濃度に含む Tween-albumin 培地で 8 代にわたり H37Rv 株の継代培養を行なったが、耐性上昇はほとんど認められなかったと述べている。山本<sup>21)</sup>は同培地で 2 週間隔の増量継代培養を行ない、第 2 代で 5 倍、第 4 代で 10 倍の耐性上昇を認めたが、第 6 代以降も 20 $\gamma$ /ml 以上の耐性菌は得られなかったと述べている。同様の方法により伊藤<sup>22)</sup>は、6 代で 6.25 $\gamma$ /ml、8 倍の耐性値を得ているが、耐性上昇の形式は緩徐であるとしている。

著者の実験では第 3 代で第 1 代耐性値 1.25 $\gamma$ /ml の 5 倍に相当する 6.25 $\gamma$ /ml、第 5 代で 10 倍に相当する 12.5 $\gamma$ /ml の耐性値が得られたが、SOM 併用の耐性上昇に及ぼす影響は認められなかった。

以上を総括すると試験管内において、各抗結核薬に特有の耐性上昇形式が認められたわけであるが、これに対して SOM を 0.5 $\gamma$ /ml で併用した場合にはこれら各抗結核薬耐性上昇をほとんど遅延せしめることが出来なかった。しかしながら 1 $\gamma$ /ml の濃度で併用した場合には、SM, INH, VM, TH 等においてわずかながら耐性遅延効果が認められた。Tween-albumin 培地における SOM の MIC は、第 1 篇において述べたごとく 3.13 $\gamma$ /ml、または 6.25 $\gamma$ /ml を示すことが多い。換言すれば感受性菌が対照に近い発育を示し得る SOM の最高濃度は 1.56～3.13 $\gamma$ /ml である。また一方、SOM 耐性上昇は

きわめて緩慢な PC-pattern を示すことが明らかにされた。このようなことから 1 $\gamma$ /ml 以上の SOM 併用濃度では継代培養が不可能になるおそれもあったので実験的な研究は行なわなかったが、臨床的には 1 $\gamma$ /ml 以上の生体内濃度を充分期待出来るので、臨床上的 SOM 併用による耐性遅延効果については今少し期待出来るのではないかとも思われる。

また以上の実験はすべて増量継代法によってなされたものであるが、試験管内で出来るだけ生体に近い環境の下に耐性遅延効果を検討しようとする手段として恒量置換培養法<sup>23)</sup>がある。第 2 篇において併用効果の認められた濃度で薬剤を併用させ、この方法によって遅延効果を検討すればまた異なった実験成績が得られるかもしれない。この問題に関しては将来の検討に委ねたい。

## 結 論

SOM 耐性上昇形式、これに及ぼす各種抗結核薬の影響、並びに各種抗結核薬耐性上昇に及ぼす SOM の影響を、Tween-albumin 培地、H37Rv 株による増量継代法によって検討し、次の結論を得た。継代数は 4 乃至 5 代迄である。

1. SOM 耐性上昇形式は一般に緩徐であり、耐性値は 5 代で 8 倍になったに過ぎない。また 25 $\gamma$ /ml をこえる耐性菌は得られなかった。
2. 各種抗結核薬併用による SOM 耐性上昇遅延効果は、いずれの薬剤を併用させた場合もほとんど認められなかった。
3. SOM 併用による各種抗結核薬耐性上昇遅延効果は、SOM 併用濃度が 0.5 $\gamma$ /ml の場合はほとんど認められなかったが、1 $\gamma$ /ml の場合には SM, INH, VM, TH 耐性上昇をわずかながら遅延させた。

擧筆に際し、御指導を賜った前川暢夫助教授、吉田敏郎博士、津久間俊次博士、並びに SOM を合成された京都薬科大学藤川福二郎教授、平井邦夫助教授、御協力いただいた住友化学工業株式会社関係者各位に深甚の謝意を表明する。

## 文 献

- 1) Midlebrook, G. & Yegian, D. : Amer. Rev.

- Tuberc., 54 : 553, 1946.
- 2) Demerec, M : J. Bact., 56:63, 1948.
  - 3) Demerec, M : J. Clin. Invest., 28:891, 1949.
  - 4) Hsie, I. & Bryson, V : Ame. Rev. Tuberc., 62 : 286, 1950.
  - 5) 小沢 : 未発表
  - 6) 熊谷 : 日本医事新報, 1838 : 3, 1959.
  - 7) 前田 : 結核, 35 : 195, 1960.
  - 8) Steenken, W. et al : Amer. Rev. Tuberc., 73 : 539, 1956.
  - 9) Renzetti, A. D. et al : Amer. Rev. Tuberc., 74 : 128, 1956.
  - 10) 海老名他 : 呼吸器診療, 12 : 873, 1957.
  - 11) 国枝 : 京大結研紀要, 7 (2) : 110, 1959.
  - 12) Epstein, I. G. et al : Amer. Rev. Tuberc., 75 : 553, 1957.
  - 13) Wollinsky, E. et al : Amer. Rev. Tuberc., 75 : 510, 1957.
  - 14) Yeager, R. L. et al : Amer. Rev. Tuberc., 75 : 1016, 1957.
  - 15) 東村他 : 医学と生物学, 43 : 3, 1957.
  - 16) 堂野前 : 日本臨床結核, 15 : 59, 1957.
  - 17) Steenken, W. et al : Amer. Rev. Tuberc., 63 : 30, 1951,
  - 18) 神尾 : 京大結研紀要, 7 (2) : 268(増刊号), 1959.
  - 19) 金井 : 結核, 36 : 87, 1961.
  - 20) Thomas, J. P. et al : Amer. Rev. Resp. Dis., 83 : 891, 1961.
  - 21) 山本 : 日本胸部臨床, 22 : 797, 1963.
  - 22) 伊藤 : 日本胸部臨床, 22 : 36, 1963.
  - 23) 国枝 : 京大結研紀要, 7 (2) : 105, 1959.